



REC'D 18	10/2003	3 / 06641
WIPO	PCT	

*Ministero delle Attività Produttive*  
*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*  
*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*  
*Ufficio G2*



Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:

N. MI2002 A 001684

*Si dichiara che l'unità copia è conforme ai documenti originali  
 depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
 risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
 COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Roma, il 13 GIU. 2003

IL DIRIGENTE

*Giampietro Carlotto*  
 Giampietro Carlotto

BEST AVAILABLE COPY

## AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ

## A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione

THERAPICON SRL

Residenza

MILANO (MI) VIA M. MARCHESI DE TADDEI' 21

2) Denominazione

Residenza

## B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza

via

n.

città

cap

(prov)

## C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

THERAPICON SRL

via

MALACHIA MARCHESI DE TADDEI

n.

21

città

MILANO

cap

201 46

(prov)

MI

## D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/scl)

gruppo/sottogruppo

COMPOSIZIONE FARMACEUTICA DI PEPTIDE NASALE

## ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI

NO

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

## E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1)

VERONESI PAOLO ALBERTO

3)

2)

RODRIGUEZ PABLO EDUARDO ANDRES

4)

## F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

## SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1)

2)

## G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

## H. ANNOTAZIONI SPECIALI

## DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) ☒ PROV n. pag. 49Doc. 2) ☐ PROV n. tav. ☐Doc. 3) ☐ RISDoc. 4) ☐ RISDoc. 5) ☐ RISDoc. 6) ☐ RISDoc. 7) ☐

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) ....

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) .....

lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale .....

designazione inventore .....

documenti di priorità con traduzione in italiano .....

autorizzazione o atto di cessione .....

nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale Euro

291,80 (DUECENTONOVANTUNO/80)

COMPILATO IL

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

Dr. Paolo Alberto VERONESI (Amministratore Unico)

CONTINUA SI/NO

NO

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO

SI

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI

MILANO

MILANO

codice 115

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 001684

Reg. A.

L'anno DUEMILADUE

il giorno VENTINOVE

del mese di LUGLIO

Il(I) richiedente(I) sopraindicato(I) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n.

100 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

## I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

DEPOSITANTE

timbro

UFFICIALE ROGANTE

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, INVENZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

MI2002A 0016

REG. B

DATA DI DEPOSITO 29/01/2002

DATA DI RILASCIO

NUMERO BREVETTO

D. TITOLO

COMPOSIZIONE FARMACEUTICA DI PEPTIDE NASALE

L. RIASSUNTO

Composizione farmaceutica acquosa, pronta per l'uso o da ricostituire, inserita in un sistema di erogazione monodose a perdere oppure multidose, idonea per la somministrazione nasale, caratterizzata dalla combinazione di un peptide, ormone peptidico, polipeptide o qualsiasi suo sale accettabile per uso farmaceutico o frammento peptidico, peptide personalizzato (definiti per comodità "peptide nasale") e di un particolare coadiuvante di assorbimento e stabilizzante. L'invenzione include il metodo di preparazione, con l'eventuale ausilio di altri additivi, e la relativa preparazione medicinale, particolarmente stabile sia durante la conservazione che durante l'uso.

M. DISEGNO

Descrizione dell'Invenzione Industriale dal titolo :

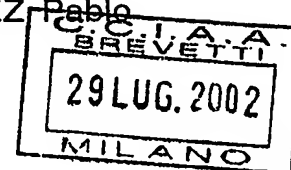
**"COMPOSIZIONE FARMACEUTICA DI PEPTIDE NASALE"**

a nome di THERAPICON S.r.l. con sede in Milano (MI) 20146, Via  
Malachia Marchesi de Taddei n. 21 - C.F./P. IVA 08071680154

Inventori designati : VERONESI Paolo Alberto, RODRIGUEZ Pablo

Eduardo Andrés

depositata il \_\_\_\_\_ con il n. \_\_\_\_\_



\* \* \* \* \*

L'invenzione riguarda una composizione farmaceutica per somministrazione nasale caratterizzata da una associazione di un peptide farmaceuticamente attivo, di origine naturale, sintetica o ricombinante, un ormone peptidico, un polipeptide o qualsiasi dei suoi sali farmaceuticamente accettabili o dei suoi frammenti peptidici, un peptide personalizzato oppure una miscela (d'ora in avanti definito per ragioni di convenienza come "*peptide nasale*"), come ingrediente terapeuticamente attivo, e del coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM, ovvero del [tri(idrossimetil)] amminometano, in un diluente o veicolo liquido farmaceuticamente accettabile, ed in particolare riguarda una soluzione farmaceutica acquosa per somministrazione nasale pronta per l'uso o da ricostituire. Infatti il coadiuvante di assorbimento selezionato THAM é l'unica ammina accettore di ione idrogeno, privo di alcuna rilevante tossicità (la maggior parte delle ammine produce marcati effetti tossici *in vivo* quando usate in quantità di

dosaggio sufficiente), in grado di depolarizzare in modo fisiologico e reversibile le cellule epiteliali della mucosa nasale, esercitando quindi attività coadiuvante di assorbimento favorendo la permeabilità e migliorando l'efficienza del trasporto attivo attraverso la mucosa nasale. Pertanto THAM é l'unico ed efficace agente coadiuvante di assorbimento di natura amminica che caratterizza la composizione farmaceutica della presente invenzione, che pertanto può essere applicata in dose utile attraverso la mucosa nasale.

THAM rappresenta inoltre un notevole stabilizzante del peptide nasale della composizione farmaceutica dell'invenzione.

La presente invenzione riguarda inoltre il metodo per produrre la composizione farmaceutica dell'invenzione, sia come soluzione pronta per l'uso sia come soluzione ricostituita, che può essere inserita in un complesso sistema di erogazione monodose a perdere oppure multidose.

### **STATO DELL'ARTE**

Peptidi farmacologicamente attivi, come buserelina, insulina, desmopressina e molti altri peptidi di media e lunga catena, di diversa e documentata utilità farmaceutica ed utilizzati attualmente come farmaci terapeutici, vengono facilmente degradati dagli enzimi nello stomaco e nell'intestino umano e sono facilmente metabolizzati nel fegato umano. Quindi é difficile che questi peptidi possano essere assorbiti attraverso

le porzioni gastro-intestinali e che possano esercitare i loro specifici effetti farmacologici nel corpo del paziente. Quindi per questo i peptidi sono stati generalmente somministrati come differenti tipi di iniezioni, come ad esempio iniezioni per via ipodermica, intramuscolare ed endovenosa.

Inoltre il paziente é soggetto a dolore ed irritazione, come per esempio danno o necrosi tissutale nel corso della somministrazione a breve e lungo termine delle iniezioni di peptide e sussiste il rischio potenziale di infezioni cagionate da malattie trasmissibili.

Anche le più recenti formulazioni iniettabili a lungo rilascio per la somministrazione di alcuni peptidi (brevetto U.S.A. 5,582,591; brevetto U.S.A. 5,776,885 e brevetto U.S.A. 6,376,461) non hanno risolto in modo soddisfacente l'accettabilità del paziente. La percentuale di rilascio del peptide presenta un picco alto nel periodo iniziale (il rilascio del peptide non é così graduale come auspicabile), la quantità residua di solventi organici clorurati, utilizzati per questi classici procedimenti, é notevole ed il procedimento di sterilizzazione finale del prodotto formulato é effettuato solamente per mezzo di radiazioni gamma, con i conseguenti possibili rischi. Questi sono alcuni degli aspetti negativi che tuttora rappresentano i maggiori problemi tecnici non ancora risolti della somministrazione per via parenterale a lento rilascio dei peptidi.



Altri metodi alternativi di somministrazione dei peptidi sono anche stati proposti in passato in modo empirico, come ad esempio la somministrazione rettale di una supposta (J. Pharm. Pharmacol., 33, 334, 1981), la somministrazione endotracheale (Diabetes, 20, 552, 1971) e la somministrazione per via endoculare (J. of Diabetic Society, Summary, 237, 1974).

Inoltre, nessuno di questi tentativi é stato ancora messo in pratica a causa della insoddisfacente quota di assorbimento, della grande variabilità di assorbimento, della irritazione provocata dai promotori di assorbimento e degli agenti preservanti o dagli ingredienti ausiliari.

Per tutte queste ragioni, sono stati intensificati nel corso di questi anni più recenti gli studi per somministrare composti peptidici attraverso le mucose, come la mucosa nasale. Quindi le composizioni farmaceutiche contenenti peptidi per somministrazione attraverso la mucosa nasale sono molto ambite ed il loro sviluppo ha attratto durante quest'ultima decade l'interesse di molti ricercatori.

Nonostante ciò, in considerazione del fatto che i composti peptidici sono decisamente instabili nelle soluzioni acquose e che, quando non sono adeguatamente formulati, possono facilmente degradare, perdere la loro attività e dar luogo ad indesiderati prodotti di degradazione, molti autori hanno concentrato i loro sforzi a sviluppare composizioni in polvere

per somministrazione nasale (EP 0 302 772; EP 0 468 182 e WO 99/59543, per citare solo alcuni di questi).

I tentativi di ottenere soluzioni acquose farmaceutiche sono al momento piuttosto limitati e spesso applicabili esclusivamente ad un solo peptide, come ad esempio la somministrazione nasale di insulina (EP 94157), di vasopressina (EP 55066-517; JP 55055-120) e di peptidi di formula differente (DE 2.256.445; DE 2.758.463; BE 860.717; SA 68/421). La maggior parte di queste pubblicazioni forniscono una soluzione tecnica specifica solo per un determinato peptide, così che esiste ancora oggi un urgente bisogno di avere a disposizione una composizione farmaceutica generale, adeguata ed equivalente non solo a quelle composizioni di peptidi già formulati per la via nasale, ma anche vantaggiosamente applicabile ad un più largo numero di peptidi che sono invece usati al momento solo per via parenterale.

Inoltre ulteriori problemi tecnici sono rappresentati da altri inconvenienti ancora irrisolti : qualche volta il medicinale liquido esce fuori rapidamente dopo la somministrazione; in altri casi il promotore dell'assorbimento e/o l'agente conservante produce reazioni avverse indesiderate, come ad esempio l'uso del cloruro del benزالconio (Amer. J. Ophtalmol. 105, 6, 1988, p 670-73; Contact Dermatitis 17, 1, 1987, p 41-2; Cutis, 39, 5, 1987, p 381-83) o di clorobutanolo (Acta Otolaryng. 70, 1970, p 16-26; Merck Index Twelfth Edition



sezione n. 2148; U.S. Pat. 5,759,565), mentre vi sono ulteriori problemi che la sicurezza e la stabilità del peptide possano essere negativamente influenzate dall'aggiunta di agenti di superficie, di altri ingredienti ausiliari e dalla accidentale contaminazione di microrganismi. Inoltre, nella maggior parte degli adulti, la capacità della superficie della cavità nasale umana di trattenere soluzioni acquose della maggior parte dei prodotti somministrati per via nasale, è inferiore a 400 microlitri, mentre, d'altra parte, circa 100 microlitri è il minore volume di una dose riproducibile di prodotto in modo adeguato per mezzo di erogazioni individuali del sistema misuratore. Inoltre, per un'efficiente assorbimento sistemico di prodotti terapeutici somministrati per via nasale, il veicolo che trasporta il principio attivo deve rimanere in contatto con l'epitelio mucoso per un sufficiente intervallo di tempo. Nonostante la somministrazione endonasale di peptidi attivi sia abbastanza descritta in letteratura, diversi autori hanno rapportato sia progressi limitati, risultati parzialmente soddisfacenti od addirittura contraddittori : *Experientia*, 1969 Nov. 15, 25(11), p 1195-6; *Lancet*, 1974 May 4, 1(7862), p 865; *Antimicrobial Agents Chemother.*, 1978 Oct., 14(4), p 596-600; *Lancet*, 1979 Aug. 4, 2(8136), p 215-7; *Br. Med. J.*, 1982, 284(6312), p 303-6; *Aerosols in Medicine*, Elsevier Scientific, 1983, p 346.

Un altro aspetto tecnico praticamente ignorato in letteratura, ma molto importante e ben noto a persona esperta nel campo, é la stabilità dei peptidi, specialmente quando sono formulati. Infatti le condizioni di conservazione più auspicabili per un peptide sono : lo stato fisico solido, temperature intorno a 0°C ed accurata protezione dall'ossigeno, che é per lo più responsabile dei processi di degradazione riguardanti l'ossidazione dei legami disolfurici e/o dei radicali amminici, che caratterizzano la struttura tridimensionale dei peptidi e la loro attività biologica, ed é quindi molto importante evitare o limitare per quanto possibile questo contatto accidentale.

Inoltre é stato osservato che l'isotonicità ed il pH delle soluzioni non sembrerebbero essere essenziali né per promuovere l'assorbimento dei peptidi né per le loro composizioni galeniche, mentre invece l'uso di azoto é una misura preventiva già nota da molti decenni.

Un altro scopo importante ed auspicabile é anche quello di rendere stabili (proteggere dall'ossigeno) le composizioni farmaceutiche contenenti il peptide terapeutico. Inoltre la necessità di stabilità per questo tipo di composizione farmaceutica non deve essere limitato solo al periodo di validità prima dell'uso, ma deve anche riguardare la stabilità in corso d'uso dopo l'apertura, come é stato raccomandato in una recente nota da seguire adottata da alcune autorità regolatorie, come The European Agency for the Evaluation of Medicinal



Products (EMA)-Linea guida CPMP/QWP/2934/99, Set. 2001,  
disponibile sul sito Internet <http://www.emea.eu.int/>.


### **OBIETTIVI DELL'INVENZIONE**

Quindi il problema riguardante la presente invenzione é la realizzazione di una composizione farmaceutica nuova e generale da somministrare attraverso la mucosa nasale, che comprenda l'utile associazione di un qualsiasi peptide nasale prescelto, farmaceuticamente attivo, e del coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM, allo scopo di ottenere tassi di assorbimento costanti, livelli ottimali di dosaggio terapeutico e di migliorare l'accettabilità da parte del paziente. Un ulteriore scopo riguardante la presente invenzione é di proteggere il peptide nasale da problemi di sicurezza e di stabilità (ossidazione dei ponti disolfurici) della composizione, migliorando non solamente il periodo di validità prima dell'apertura, ma anche la stabilità durante l'uso, allorché il contenitore multidose viene aperto. Un ulteriore obiettivo riguardante la presente invenzione é il metodo per produrre la composizione farmaceutica dell'invenzione come soluzione pronta per l'uso o come soluzione da ricostituire, che può essere confezionata in modo conveniente in uno strumento con sistema dispensatore, monodose a perder oppure multidose.

## **DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE**

Sorprendentemente ciò é stato raggiunto con la presente invenzione. Questa invenzione si basa sull'imprevedibile osservazione che composizioni farmaceutiche per somministrazione nasale contenenti la combinazione di un peptide nasale farmacologicamente attivo e del coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM disciolti in un liquido diluente o veicolante, farmaceuticamente accettabile, contenendo eventualmente detta soluzione acquosa anche altri additivi ausiliari, idonei per preparazioni farmaceutiche, possano soddisfare i requisiti anteriori ed ovviare in modo soddisfacente la maggior parte dei problemi tecnici dianzi illustrati per queste composizioni.

E' stato trovato in modo del tutto inatteso che tale composizione farmaceutica é particolarmente adatta per la somministrazione nasale. Quando applicata sull'epitelio mucoso, come soluzione pronta all'uso o come soluzione ricostituita, mostra l'effetto farmacologico desiderato, nella misura in cui é necessario per stimolare l'effetto farmacologico richiesto, in rapporto alla somministrazione tramite altre vie, e presenta notevoli proprietà stabilizzanti, riducendo pertanto il rischio di sviluppo di degradazione e/o di inattivazione del peptide nasale nel corso del periodo di validità prima dell'uso, ma migliorando in modo particolare la stabilità in corso d'uso dopo l'apertura, allorché confezionato all'interno di uno



strumento con sistema dispensatore, che, come spesso accade, é poi conservato durante vari mesi prima di essere utilizzato. In primo luogo pertanto, come indicato nella presente invenzione, la composizione farmaceutica per somministrazione nasale contiene :

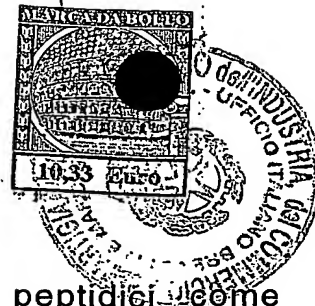
(1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale farmaceuticamente attivo od un suo sale o frammento, come ingrediente terapeuticamente attivo; e

(2) il coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM;

in un diluente o veicolo liquido, idoneo per preparazioni farmaceutiche, particolarmente adatto per la somministrazione sull'epitelio mucoso della mucosa nasale, contenendo eventualmente detta soluzione acquosa anche altri additivi ausiliari, adatti per preparazioni farmaceutiche, come ad esempio (a) un acido inorganico oppure organico; (b) una oppure una miscela di sostanze conservanti; (c) un coformulante ammino acidico; nella quale i due componenti essenziali (1) e (2) vengono disciolti assieme direttamente in acqua, come soluzione pronta per l'uso, oppure il componente (1) viene preparato come polvere solida da ricostituire al momento del suo impiego con un adeguato volume di diluente o di veicolo liquido, acquoso.

Preferibilmente i peptidi nasali fisiologicamente attivi, che può essere somministrati in modo vantaggioso seguendo le indicazioni della presente invenzione, sono quei peptidi con un

peso molecolare compreso tra 1000 e 150000 Dalton, in quanto questi sono facilmente assorbiti attraverso la membrana della mucosa nasale. In particolare sono preferibili quelli con un peso molecolare compreso tra 1000 e 50000 Dalton. Tali preferibili peptidi nasali fisiologicamente attivi, che comprendono anche i loro sali farmaceuticamente accettabili ed i loro frammenti peptidici, sono citati come esempio nelle seguente lista, giusto per citarne alcuni, fatto che pertanto non può essere considerato una limitazione. Per esempio, ormoni peptidici o derivati ormonali come buserelina, desmopressina, vasopressina, angiotensina, felipressina, octreotide, somatropina, tirotropina (TSH), somatostatina, goserelina, triptorelina, insulina (bovina, porcina, sintetica o ricombinante), protirelina, adrenocorticotropina (ACTH), prolattina, ormone luteinizzante (LH), ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante (LH-RH), leuprorelina, calcitonina (umana, di pollo, di anguilla, porcina o ricombinante), carbocalcitonina, peptide calcitonina gene relazionato (CGRP), kallicreina, paratirina, glucagone, ossitocina, gastrina, secretina, leptina, nafarelina, gonadotropina serica, fattore di rilascio della gonadotropina, ormone della crescita, eritropoietina, irudina, urogastrone, renina, ormone paratiroideo umano (h-PTH); proteine fisiologicamente attive come limfocine o monochine come interferone ed interleuchina, transferrina, istaglobulina, macrocortina,



endorfine, encefalina, neurotensina; enzimi peptidici come lisozima, urochinasi, superossido dismutasi; vaccini proteici acellulari e cellulari come il vaccino della pertosse, vaccino difterico, vaccino tetanico, vaccino influenzale; tossoidi peptidici come tossoidi difterici, tossoidi tetanici; posso essere formulati in modo vantaggioso nella composizione farmaceutica dell'invenzione. Le proteine personalizzate, che sono una nuova categoria di prodotti medicinali di natura peptidica derivati dal genoma e che possono esser personalizzate per ciascun paziente per una determinata malattia, possono essere altresì incluse in modo vantaggioso. Inoltre, d'accordo con la presente invenzione, la composizione farmaceutica per somministrazione nasale contiene di preferenza :

(1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale, come dianzi indicato;

(2) il coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM;

in un diluente o veicolo liquido acquoso, idoneo per preparazioni farmaceutiche, adatto per la somministrazione nasale, contenente inoltre eventuali altri additivi ausiliari, idonei dal punto di vista farmaceutico, come ad esempio (a) acido cloridrico od acido citrico; (b) uno oppure una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile; (c) cisteina;

nella quale i due ingredienti essenziali (1) e (2), allorché formulati come soluzione pronta all'uso unitamente agli

additivi ausiliari, può essere inoltre confezionata in uno strumento con sistema di erogazione monouso a perdere oppure multiuso.


Composizioni farmaceutiche di elezione di codesta invenzione contengono una associazione di :

- (1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale in concentrazione compresa tra 0,001 microgrammi/ml e 50,0 mg/ml oppure tra 10 Unità/ml e 20000 Unità/ml, che può variare in modo vantaggioso per ciascun peptide nasale selezionato in relazione alla dose unitaria terapeuticamente efficace da somministrare per via endonasale; e
- (2) THAM in concentrazione compresa tra 0,5 mg/ml e 30,0 mg/ml, che può variare in modo utile per ciascun peptide nasale in relazione all'attività coadiuvante di assorbimento richiesta ed alle necessità stabilizzanti;

in un diluente o veicolo liquido acquoso, idoneo per preparazioni farmaceutiche, che contiene inoltre altri eventuali additivi ausiliari, idonei dal punto di vista farmaceutico, come ad esempio (a) acido cloridrico 0,1 N in concentrazione tra 0,3 mg/ml e 30,0 mg/ml oppure acido citrico in concentrazione tra 0,6 mg/ml e 60,0 mg/ml; (b) uno oppure una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile in concentrazione tra 0,1 mg/ml e 3,0 mg/ml; (c) cisteina in concentrazione compresa tra 0,05 mg/ml e 50,0 mg/ml.




E' particolarmente preferibile che :

- 
- (1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale sia in concentrazione compresa tra 0,01 microgrammi/ml e 10,0 mg/ml oppure tra 20 Unità/ml e 12500 Unità/ml;
  - (2) THAM sia in concentrazione compresa tra 2,0 mg/ml e 4,5 mg/ml;

e che il veicolo liquido acquoso, idoneo per preparazioni farmaceutiche, contenga inoltre eventuali altri additivi ausiliari, idonei dal punto di vista farmaceutico, come ad esempio (a) acido citrico monoidrato in concentrazione compresa tra 2,8 mg/ml e 6,2 mg/ml; (b) una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e di propile, che però non ecceda la concentrazione totale di 0,3 mg/ml, ma con un rapporto compreso tra 2:1 e 20:1; (c) cisteina in concentrazione compresa tra 0,5 mg/ml e 10,0 mg/ml.

Inoltre é stato trovato sorprendentemente che THAM, quando miscelato nella composizione farmaceutica che contenga un peptide nasale, aumenta le proprietà coadiuvante dell'assorbimento della composizione farmaceutica ed i livelli di biodisponibilità del peptide nasale, successivi alla somministrazione endonasale. Infatti é stato riscontrato in modo sorprendente che una delle più importanti caratteristiche di THAM nella presente invenzione é che questo accettore organico di idrogenioni produce una notevole attività biologica

5\*

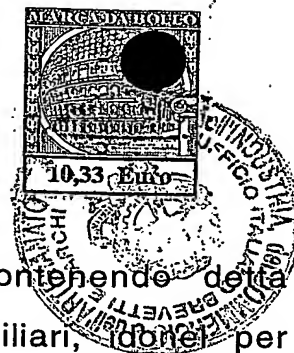


*in vivo* e depolarizza in modo fisiologico e reversibile le membrane cellulari epiteliali della mucosa nasale, favorendo quindi un processo attivo di assorbimento del peptide nasale. Inoltre THAM, contrariamente ad altre ammine, produce questi effetti desiderati a concentrazioni alle quali le altre ammine presentano notevoli problemi di tossicità.

Un altro sorprendente vantaggio tecnico risiede nel fatto che THAM contribuisce in modo significativo alla stabilizzazione della peptide nasale contenuto nella composizione farmaceutica. Infatti é stato osservato in modo sorprendente che le composizioni farmaceutiche liquide contenenti THAM non assorbono facilmente O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> dall'atmosfera, evitando quindi il contatto con l'ossigeno e migliorando il profilo di stabilità durante la produzione, conservazione ed uso, tanto che la produzione sotto flusso di azoto é quindi una scelta opzionale.

In altre parole, é stato sperimentalmente osservato che THAM previene l'ossidazione dei ponti disolfurici fra i tioammino acidi dei peptidi nasali, stabilizzando quindi in modo sorprendente la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale della composizione farmaceutica.

In relazione alla presente invenzione, viene anche fornito un metodo di produzione la composizione farmaceutica. La composizione farmaceutica comprendente una miscela del peptide nasale prescelto o di un suo sale o di un suo frammento peptidico e del coadiuvante di assorbimento e estabilizzante



THAM in un diluente o veicolo liquido, contenendo detta soluzione acquosa altri eventuali additivi ausiliari, idonei per l'uso farmaceutico, viene prodotta per mezzo di un metodo, che differisce in modo sostanziale quando venga prodotta una soluzione pronta per l'uso (monodose a perdere o multidose) oppure una soluzione da ricostituire (multidose). Pertanto il metodo di produzione della composizione farmaceutica comprende, ad esempio, passaggi essenziali, che possono essere, per maggiore convenienza, abbreviati come segue :


(A) Soluzione pronta per l'uso :

- (a1) in una determinata quantità di acqua distillata viene disciolto in un idoneo contenitore la quantità prescritta di THAM ed eventualmente di p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile, di acido cloridrico o di acido citrico, di cisteina e mescolato fino a completa dissoluzione;
- (a2) una idonea quantità di peptide nasale farmaceuticamente attivo o di un suo sale o frammento viene poi accuratamente disciolta nella soluzione (a1), mescolando adagio per evitare la formazione di schiuma.

Il metodo di produzione comprende inoltre le fasi di :

- (a3) filtrare la soluzione (a2) per renderla idonea all'uso nasale; e
- (a4) riempire un contenitore monodose a perdere oppure multidose con la quantità desiderata di filtrato. Il

2 0 \*



monodose é un sistema integrato, mentre il contenitore multidose deve essere chiuso in modo adeguato con uno strumento con sistema di erogazione utile per la somministrazione endonasale, come viene descritto in seguito.

Lo strumento con sistema di erogazione dianzi citato eroga ad ogni utilizzo il volume predeterminato (equivalente ad una dose unitaria terapeuticamente efficace) di soluzione di peptide nasale. La soluzione pronta per l'uso é preferibile per quei peptidi nasali che mostrano un soddisfacente profilo di validità, anche quando vengono formulati in soluzioni acquose, sia durante il periodo di conservazione prima dell'uso e sia anche durante il periodo di uso dopo l'apertura. Lo strumento con sistema di erogazione nasale, che viene prodotto in modo idoneo e che é disponibile sul mercato a questo scopo, é in grado di contenere una quantità sufficiente di composizione farmaceutica per erogare una singola unità di dose nasale od in sequenza parecchie dosi unitarie (da qui il termine "multidose") per un periodo di giorni o di settimane. La quantità erogata (volume misurato) corrisponde ad una dose unitaria terapeuticamente efficace di peptide nasale da somministrare sull'epitelio della mucosa nasale, come già precedentemente determinato per ciascun peptide nasale impiegato.

Pertanto, in relazione a quanto sopra, la presente invenzione inoltre offre un idoneo strumento con sistema di erogazione per

somministrazione nasale di una determinata quantità di peptide nasale della composizione farmaceutica, che include un contenitore idoneo, una pompa volumetrica di precisione che eroga l'esatto volume di soluzione, l'applicatore nasale che permette la somministrazione sotto forma di gocce o di spray sull'epitelio nasale, essendo tale utile strumento con sistema di erogazione composto da una miscela di :

(1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale fisiologicamente attivo od un suo sale o frammento, come ingrediente terapeuticamente attivo; e

(2) il coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM;

in un diluente o veicolo liquido, idoneo, potendo contenere detta soluzione altri eventuali additivi ausiliari, come ad esempio (a) un acido inorganico od un acido organico; (b) uno oppure una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile; (c) un coformulante ammino acidico.

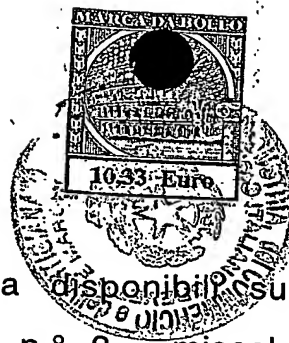
Pertanto la presente invenzione riguarda pure un metodo di somministrazione di una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale o di un suo sale o frammento ad un paziente che richieda un trattamento con detto peptide nasale, comprendendo tale metodo la somministrazione della composizione farmaceutica, come dianzi definita, a tale paziente attraverso la via nasale.

Il contenitore, la pompa volumetrica di precisione e l'applicatore nasale possono essere integrati in una unica unità monodose, che può essere anche del tipo a perdere

Lo strumento con sistema di erogazione di un erogatore multidose può essere anche provvisto di un sistema contacolpi.

(B) Soluzione da ricostituire (contenitore n.° 1 e n.° 2) :

- (b1) una idonea quantità di peptide nasale farmaceuticamente attivo o di un suo sale o frammento viene disciolta separatamente in una idonea quantità di solvente; dopo la filtrazione della soluzione ed il riempimento in modo adeguato di un contenitore multidose con un volume predeterminato di filtrato, la soluzione viene liofilizzata in modo idoneo; il contenitore viene successivamente chiuso in modo adeguato per mezzo di uno dei tanti sistemi di chiusura, disponibili sul mercato per questo scopo, (contenitore n.° 1 - peptide nasale polvere);
- (b2) in una determinata quantità di acqua distillata viene disciolto in un idoneo contenitore la quantità prescritta di THAM ed eventualmente di p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile, di acido cloridrico o di acido citrico, di cisteina, mescolato fino a completa dissoluzione; la soluzione risultante viene poi filtrata; con un idoneo volume di filtrato viene riempito un adeguato contenitore, che viene chiuso in modo adeguato




con uno dei tanti sistemi di chiusura disponibili sul mercato per questo scopo (contenitore n.° 2 - miscela solvente per ricostituzione).

Pertanto, al momento di iniziare il suo utilizzo, il peptide nasale in polvere viene ricostituito come soluzione nasale versando la miscela solvente del contenitore n.° 2 nel contenitore n.° 1 e mescolando accuratamente ruotando il contenitore fino alla completa dissoluzione della polvere del peptide nasale. Fatto questo, viene installato sul collo con chiusura a vite del contenitore n.° 1 uno strumento con sistema di erogazione, già descritto nel precedente paragrafo "(A) Soluzione pronta per l'uso", che ha invece una idonea pompa di precisione con chiusura a vite. La soluzione ricostituita é preferibile per quei peptidi nasali che, formulati in soluzioni acquose, mostrano un profilo non soddisfacente di validità durante il periodo di conservazione prima dell'uso.

Entrambe, la soluzione pronta per l'uso e la soluzione ricostituita (contenitori n.° 1 e n.° 2) vengono mantenuti a condizioni ideali di conservazione, in base ai loro dati individuali di stabilità, e nella maggior parte dei casi la temperatura controllata di conservazione deve essere mantenuta in un intervallo tra  $+5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , mentre in altri casi la temperatura di conservazione non deve superare i  $+ 25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

D'accordo alla presente invenzione, la dose terapeuticamente efficace di un peptide nasale o di un suo sale o frammento,



contenuto nella composizione farmaceutica per somministrazione attraverso l'epitelio della mucosa nasale, può variare in base al tipo utilizzato di peptide nasale o suo sale o frammento ed anche in base all'età del paziente, peso corporeo, gravità della malattia, risposta terapeutica desiderata, condizioni di salute ed in base alla somministrazione contemporanea di altri farmaci.

Generalmente la dose della composizione farmaceutica per somministrazione nasale dell'invenzione che contiene un peptide nasale farmaceuticamente attivo, può essere determinata in base alle dosi di somministrazione già note del peptide nasale utilizzato.

L'invenzione viene ora illustrata in dettaglio facendo riferimento ai seguenti esempi sperimentali, che vengono descritti solo allo scopo di presentare maggiori dettagli piuttosto che di limitare lo scopo dell'invenzione.

#### ESEMPIO 1

##### COMPOSIZIONE MULTIDOSE DI DESMOPRESSINA CON LUNGA VALIDITA' E STABILE DURANTE L'USO

Una composizione farmaceutica di desmopressina, preparata come spray nasale multidose, conforme alla presente invenzione [Formulazione (A)], che presenta una validità superiore a due anni, se conservata in condizioni controllate di refrigerazione ( $t^{\circ} : +5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), ed una validità durante l'uso,



dopo l'apertura, di un mese, se conservata a temperatura ambiente ( $t^{\circ} : +25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), aventi la seguente composizione :

Composizione (A)

1a)	desmopressina acetato (DDAVP)	112,60	mg
	(equivalente a desmopressina	100,00	mg)
2a)	THAM	4,40	g
3a)	acido citrico	6,28	g
4a)	p.-idrossibenzoato di metile	0,27	g
5a)	p.-idrossibenzoato di propile	0,03	g
6a)	acqua distillata q. b. a	1000,00	ml

é stata confrontata con una preparazione già disponibile sul mercato [Composizione (B)], avente la seguente composizione :

Composizione (B)

1b)	desmopressina acetato (DDAVP)	100,00	mg
2b)	cloruro di sodio	7,50	g
3b)	acido citrico monoidrato	1,70	g
4b)	fosfato disodico biidrato	3,00	g
5b)	cloruro di benalconio soluzione (50 %)	0,20	g
6b)	acqua sterile q. b. a	1000,00	ml

I risultati di stabilità sono riassunti nelle Tabelle n.° 1 e n.° 2.

Il profilo di stabilità della Composizione (A) ai differenti intervalli analitici di entrambe gli studi é risultata equivalente od addirittura un poco superiore al prodotto di riferimento già sul mercato.



Tabella n.° 1

Risultati comparativi del titolo di due Composizioni (A) e (B) di desmopressina a differenti intervalli analitici durante 24 mesi di conservazione a temperatura controllata di refrigerazione ( $+5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ).

Intervalli analitici (mesi = m) Conservazione : $+5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$	Composizione (A) Desmopressina Titolo %	Composizione (B) Desmopressina Titolo %
tempo 0	100,0	100,0
3 m	99,7	99,5
6 m	99,2	99,0
9 m	98,3	97,9
12 m	97,9	97,3
18 m	97,2	96,1
24 m	96,5	95,7
30 m	95,2	94,4
Differenza 0-30 m	4,8	5,6
Differenza 0-30 m di A (100 %) / B	100,0 %	85,7 % (-14,3 %)

Tabella n.° 2

Risultati comparativi del titolo di due Composizioni (A) e (B) di desmopressina a differenti intervalli analitici durante 30



giorni in condizioni d'uso, dopo l'apertura, con conseguente conservazione a costante temperatura ambiente ( $+25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Intervalli analisi (giorni = g) Conservazione : $+25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$	Composizione (A) Desmopressina Titolo %	Composizione (B) Desmopressina Titolo %
tempo 0	100,0	100,0
7 g	99,4	99,3
15 g	98,3	98,1
30 g	97,5	96,8
Differenza 0-30 d	2,5	3,2
Differenza 0-30 d di A (100 %) / B	100,0 %	78,1 % (-21,9 %)

## ESEMPIO 2

### COMPOSIZIONE MULTIDOSE DI BUSERELINA CON LUNGA VALIDITA' E STABILE DURANTE L'USO

Una composizione farmaceutica di buserelina, preparata come spray nasale multidose, conforme alla presente invenzione [Formulazione (C)], che presenta una validità superiore a due anni, se conservata in condizioni controllate di refrigerazione ( $t^{\circ} : +5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), ed una validità durante l'uso, dopo l'apertura, di un mese, se conservata a temperatura ambiente ( $t^{\circ} : +25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), avente la seguente composizione :

Composizione (C)

1c)	buserelina acetato	10,50	mg
	(equivalente a buserelina	10,00	mg)
2c)	THAM	42,00	mg
3c)	acido citrico	60,00	mg
4c)	p.-idrossibenzoato di metile	2,70	mg
5c)	p.-idrossibenzoato di propile	0,30	mg
6c)	acqua distillata q. b. a	10,00	g

é stata confrontata con una preparazione già disponibile sul mercato [Composizione (D)], avente la seguente composizione :

Composizione (D)

1d)	buserelina acetato	10,50	mg
	(equivalente a buserelina	10,00	mg)
2d)	cloruro di sodio	80,00	mg
3d)	citrato di sodio	24,00	mg
4d)	acido citrico monoidrato	4,00	mg
5d)	cloruro di benزالconio	1,00	mg
6d)	acqua per iniezioni	10,00	g

I risultati di stabilità sono riassunti nelle Tabelle n.° 3 e n.° 4.  
Il profilo di stabilità della Composizione (C) ai differenti intervalli analitici di entrambe gli studi é risultata equivalente od addirittura un poco superiore al prodotto di riferimento già sul mercato.

JK

Tabella n.° 3

Risultati comparativi del titolo di due Composizioni (C) e (D) di buserelina a differenti intervalli analitici durante 24 mesi di conservazione a temperatura controllata di refrigerazione ( $+5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ).

Intervalli analitici (mesi = m) Conservazione : $+5^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$	Composizione (C) Buserelina Titolo %	Composizione (D) Buserelina Titolo %
tempo 0	100,0	100,0
3 m	99,8	99,7
6 m	99,4	99,3
9 m	98,7	98,2
12 m	98,4	97,8
18 m	97,9	96,5
24 m	97,1	96,8
30 m	96,4	94,7
Differenza 0-30 m	3,6	5,3
Differenza 0-30 m, di C (100 %) / D	100,0 %	64,1 % (-35,9 %)

Tabella n.° 4

Risultati comparativi del titolo di due Composizioni (C) e (D) di buserelina a differenti intervalli analitici durante 30 giorni in

condizioni d'uso, dopo l'apertura, con conseguente conservazione a costante temperatura ambiente ( $+25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Intervalli analitici (giorni = g) Conservazione : $+25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$	Composizione (C) Buserelina Titolo %	Composizione (D) Buserelina Titolo %
tempo 0	100,0	100,0
7 g	99,5	99,5
15 g	98,8	98,4
30 g	97,9	97,5
Differenza 0-30 d	2,1	2,5
Differenza 0-30 d di C (100 %) / D	100,0 %	84,0 % (-26,0 %)

### ESEMPIO 3

COMPOSIZIONE FARMACEUTICA PER SOMMINISTRAZIONE NASALE  
CONTENENTE DESMOPRESSINA [COMPOSIZIONE (A) DELLA PROVA  
DELL'ESEMPIO 1] E RELATIVO METODO DI PREPARAZIONE

Una composizione farmaceutica sotto forma di spray nasale di  
desmopressina [Composizione (A)] dell'invenzione, avente la  
seguente formula :

- |     |                               |        |     |
|-----|-------------------------------|--------|-----|
| 1a) | desmopressina acetato (DDAVP) | 112,60 | mg  |
|     | (equivalente a desmopressina  | 100,00 | mg) |
| 2a) | THAM                          | 4,40   | g   |



3a)	acido citrico	6,28	g
4a)	p.-idrossibenzoato di metile	0,27	g
5a)	p.-idrossibenzoato di propile	0,03	g
6a)	acqua (distillata) q. b. a	1000,00	ml

é stata preparata come soluzione pronta per l'uso.

Gli ingredienti sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un volume finale di 1000,0 ml (pari a circa 400 unità). Prima sono stati disciolti gli ingredienti 4a) e 5a) in circa 800,0 ml di 6a) fino a completa dissoluzione. Successivamente sono stati aggiunti 2a) e 3a) mescolando in modo accurato. Quando la dissoluzione é stata completa, é stato aggiunto 1a) mescolando delicatamente per evitare la formazione di schiuma e quindi sono stati aggiunti i rimanenti 200,0 ml di 6a) per ottenere 1000,0 ml di soluzione. La soluzione ottenuta é stata filtrata (ovvero usando un filtro da 0,2 micron, marca Pall) per ottenere una soluzione idonea per applicazione nasale.

La soluzione filtrata é stata impiegata per riempire, in apposita area a carica batterica controllata classe 100 o 1000, ciascun contenitore multidose per spray nasale con un volume di 2,5 ml di soluzione. La composizione contiene un totale di 0,25 mg di principio attivo ed il sistema della pompa dosatrice é stato in grado di erogare successive dosi individuali di 100 microlitri ciascuna (ovvero 10 microgrammi di desmopressina per erogazione).

Allo stesso modo, utilizzando la stessa composizione, sistema di dosaggio controllato e tecniche di produzione, ma metà dell'ingrediente 1a), é stato possibile ottenere una soluzione pronta per l'uso in grado di erogare 5 microgrammi di desmopressina per spruzzo da 100 microlitri.

#### ESEMPIO 4

#### COMPOSIZIONE FARMACEUTICA PER SOMMINISTRAZIONE NASALE CONTENENTE BUSERELINA [COMPOSIZIONE (C) DELLA PROVA DELL'ESEMPIO 2] E RELATIVO METODO DI PREPARAZIONE

Una composizione sotto forma di spray nasale di buserelina [Composizione (C)] dell'invenzione, avente la seguente formula :

1c)	buserelina acetato	10,50	mg
	(equivalente a buserelina	10,00	mg)
2c)	THAM	42,00	mg
3c)	acido citrico	60,00	mg
4c)	p.-idrossibenzoato di metile	2,70	mg
5c)	p.-idrossibenzoato di propile	0,30	mg
6c)	acqua distillata q. b. a	10,00	g

é stata preparata come soluzione pronta per l'uso.

Gli ingredienti sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un volume finale di 10,0 litri (pari a circa 1000 unità). Gli ingredienti 4c) e 5c) sono stati disciolti in circa 8,0 litri di 6c) e dopo completa dissoluzione sono stati aggiunti gli ingredienti 2c) e 3c), mescolando in modo accurato. Alla fine é stato aggiunto 1c) fino a dissoluzione completa. La soluzione



così ottenuta è stata filtrata su di un filtro da 0,2 micron (marchio Pall) per ottenere una composizione idonea per l'applicazione nasale. La soluzione filtrata è stata impiegata per riempire, in apposita area a carica batterica controllata classe 100 o 1000, ciascun contenitore multidose per spray nasale con un peso di 10,0 g di soluzione. Ciascun contenitore contiene 10,0 mg di buserelina/10,0 g di soluzione e l'applicatore nasale è stato in grado di erogare successive dosi individuali di 0,1 mg di buserelina/volume di erogazione di 100 microlitri.

#### ESEMPIO 5

#### COMPOSIZIONE FARMACEUTICA CONTENENTE INSULINA IDONEA PER APPLICAZIONE NASALE E RELATIVO METODO DI PREPARAZIONE


E' stata preparata, come soluzione da ricostituire, una composizione farmaceutica di insulina [Formulazione (E)], sottoforma di spray nasale, avente la seguente composizione :

\* Preparazione del contenitore n.° 1 (polvere) :

1e)	insulina	5000	Unità
-----	----------	------	-------

\* Preparazione del contenitore n.° 2 (miscela solvente) :

2e)	THAM	58,0	mg
3e)	acido cloridrico 0,1 N	29,0	mg
4e)	p.-idrossibenzoato di metile	12,0	mg
5e)	acqua distillata q. b. a	10,00	ml

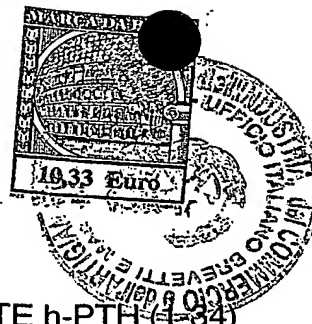


Gli ingredienti sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un totale di 100 contenitori di ciascun tipo.

Il contenitore n.° 1 é stato preparato dosando e liofilizzando l'ingrediente 1e) per mezzo di un metodo convenzionale. La miscela solvente del contenitore n.° 2 é stata preparata sciogliendo in 5e) gli ingredienti 2e), 3e) e 4e) con la stessa sequenza e tecniche dell'Esempio 3, ma regolando prima della filtrazione il pH a 7.0-7.2 per mezzo di 2e) oppure di 3e).

La miscela solvente risultante, idonea per applicazione nasale, é stata impiegata per riempire, in apposita area a carica batterica controllata classe 100 o 1000, i contenitori n.° 2, dosando in ciascuno un volume di 10,0 ml. Entrambe i contenitori sono stati poi chiusi in modo convenzionale con idonei tappi acquistabili allo scopo sul mercato.

La polvere di insulina del container n.° 1 può essere ricostituita al momento dell'uso versando nel container n.° 1 la miscela solvente del contenitore n.° 2. La pompa dosatrice prescelta con tappo a vite, dotata di applicatore nasale e relativo cappuccio, é stata successivamente installata sul collo a vite del contenitore n.° 1, contenente già la soluzione nasale ricostituita. Il volume totale di ciascun contenitore multidose ricostituito é stato di 10,0 ml (5000 Unità di insulina), mentre il sistema dosatore é stato in grado di erogare successive dosi individuali, ciascuna contenente 200 microlitri di soluzione, equivalente a 100 Unità di insulina per erogazione.



## ESEMPIO 6

### COMPOSIZIONE FARMACEUTICA CONTENENTE h-PTH (1-34) IDONEA PER APPLICAZIONE NASALE E RELATIVO METODO DI PREPARAZIONE

Una preparazione farmaceutica, sotto forma di spray nasale, di PTH-umano (1-34) [Composizione (F)], avente la seguente composizione :

1f)	h-PTH (1-34)	1000	Unità
2f)	THAM	41,50	mg
3f)	acido citrico	60,50	mg
4f)	p.-idrossibenzoato di metile	2,50	mg
5f)	p.-idrossibenzoato di propile	0,30	mg
6f)	acqua distillata q. b. a	1,00	ml

é stato preparata come soluzione pronta per l'uso.

Gli ingredienti sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un volume finale di 1,0 litro (pari a circa 300 unità, ciascuna di 3,0 ml).

Gli ingredienti 4f) e 5f) sono stati disciolti in una porzione di circa 800,0 ml di 6f) e, dopo completa dissoluzione, sono stati aggiunti gli ingredienti 2f) e 3f) e mescolati in modo accurato. Alla fine é stato aggiunto 1a) fino a dissoluzione completa ed anche i rimanenti 200,0 ml di 6f) sono stati aggiunti fino ad arrivare a 1,0 litro di soluzione. La soluzione ottenuta é stata filtrata su un filtro da 0,2 micron (marca Pall) per ottenere una soluzione idonea per l'applicazione nasale.

La soluzione filtrata é stata impiegata per riempire, in apposita area a carica batterica controllata classe 100 o 1000, ciascun contenitore multidose per spray nasale con un volume di 3,0 ml di soluzione. Ciascun contenitore racchiude 3000 Unità di h-PTH/3,0 ml di soluzione ed il sistema della pompa dosatrice é stato in grado di erogare successive dosi individuali di 100 Unità di h-PTH/100 microlitri di volume di ciascuna erogazione.

Allo stesso modo, utilizzando la stessa composizione, sistema di dosaggio volumetrico e tecniche di produzione, ma il quantitativo doppio (2000 Unità) e quadruplo (4000 Unità) dell'ingrediente 1f), é stato possibile ottenere una soluzione pronta per l'uso che erogava rispettivamente 200 Unità e 400 Unità di h-PTH/100 microlitri di volume di ciascuna erogazione.

#### ESEMPIO 7

##### STUDIO DI BIOEQUIVALENZA RELATIVA DI DUE COMPOSIZIONI DI CARBOCALCITONINA DOPO SOMMINISTRAZIONE NASALE

La Composizione (G) dell'invenzione, contenente carbocalcitonina, é stata confrontata in uno studio pilota alla Composizione (H), una composizione già disponibile sul mercato e preparata secondo tecniche già note. In particolare sono stati determinati i parametri farmacocinetici dopo somministrazione nasale di uno stesso dosaggio (dose unica di 40 MRC in 100 microlitri di soluzione nasale/erogazione) di carbocalcitonina, contenuta nelle due Composizioni (G) e (H), in 12 soggetti

(sequenza di somministrazione definita a caso, 48 ore di intervallo fra i due dosaggi, determinazione delle concentrazioni plasmatiche di carbocalcitonina per mezzo di metodo radioimmunologico (RIA) e di reagenti già noti, elaborazione statistica dei parametri biodinamici determinati). La composizione di ciascuna formulazione viene riportata di seguito :

Composizione (G)

1,0 ml di soluzione nasale pronta per l'uso (G) contiene :


1g)	carbocalcitonina	400	MRC
2g)	THAM	4,20	mg
3g)	acido citrico	6,00	mg
4g)	p.-idrossibenzoato di metile	1,00	mg
5g)	p.-idrossibenzoato di propile	0,10	mg
6g)	acqua distillata q. b. a	1,00	ml

Composizione (H)

1,0 ml di soluzione nasale pronta per l'uso (H) contiene :

1h)	carbocalcitonina	400	MRC
2h)	glicirrinato di ammonio	20,0	mg
3h)	cloruro di sodio	6,00	mg
4h)	citrato di sodio	4,63	mg
5h)	acido citrico anidro	0,37	mg
6h)	p.-idrossibenzoato di metile	1,30	mg
7h)	p.-idrossibenzoato di propile	0,20	mg
8h)	acqua depurata q. b. a	1,00	ml

9 0



Gli ingredienti della Composizione (G) sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un lotto pilota di 200 unità. La soluzione pronta per l'uso (G) é stata preparata seguendo i metodi già illustrati nell'Esempio 3, mentre la Composizione (H) era già disponibile nel mercato.

I più importanti parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche nei 12 soggetti, a diversi intervalli dopo somministrazione nasale di una dose singola di 40 MCR di carbocalcitonina (separatamente della Composizione (G) e della Composizione (H), ciascuna applicata per mezzo di un contenitore multidose con una erogazione di 100 microlitri di volume) sono stati espressi statisticamente come C<sub>max</sub> (concentrazione più alta osservata), T<sub>max</sub> (tempo della concentrazione più alta osservata), AUC<sub>tot</sub> (area totale sotto la curva della concentrazione) e T<sub>1/2</sub> (tempo di emivita).

Questi vengono riportati nelle seguenti Tabelle n.° 5 e n.° 6.

Tabella n.° 5


Composizione (G) - Parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche, ottenute in uno studio pilota di biodisponibilità relativa in 12 volontari, dopo somministrazione nasale di una dose singola di 40 MCR di carbocalcitonina soluzione (G) (volume di 100 microlitri di soluzione nasale).



Soggetto n.	Cmax	Tmax	AUCtot	T 1/2
1A	192,91	16,00	2851,21	5,23
2A	151,93	9,00	2374,02	7,74
3A	190,08	17,00	2872,65	6,19
4A	165,25	13,00	3144,23	5,52
5A	172,71	14,00	2563,96	6,04
6A	098,37	17,00	2135,80	7,38
7A	193,14	13,00	2592,17	4,03
8A	167,87	16,00	3261,35	6,75
9A	200,89	17,00	3770,24	7,02
10A	188,76	11,00	3445,18	10,03
11A	138,86	15,00	2144,09	3,98
12A	135,38	14,00	2062,46	6,12
Minimo	98,37	9,00	2062,46	4,03
Massimo	200,89	17,00	3445,18	9,81
N	12	12	12	12
Medio	166,35	14,33	2768,11	6,34

Tabella n.° 6

Composizione (H) - Parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche ottenute in uno studio pilota di biodisponibilità relativa in 12 volontari dopo somministrazione nasale di una dose singola di 40 MCR di carbocalcitonina soluzione (H) (volume di 100 microlitri di soluzione nasale).




Soggetto n.	Cmax	Tmax	AUCtot	T 1/2
1B	111,66	15,00	2161,33	7,09
2B	122,32	13,00	2379,76	4,74
3B	179,71	17,00	3250,51	6,43
4B	155,35	13,00	3114,19	6,32
5B	158,95	14,00	2441,47	5,93
6B	126,76	13,00	1969,03	3,99
7B	128,91	15,00	2087,82	5,60
8B	181,16	17,00	3398,76	6,53
9B	138,70	9,00	2484,05	7,48
10B	173,22	17,00	2918,30	4,11
11B	105,37	15,00	1869,24	4,99
12B	108,88	13,00	2168,93	5,07
Minimo	105,3700	9,00	1869,2400	3,9900
Massimo	181,1600	17,00	3398,7600	7,4800
N	12	12	12	12
Medio	140,92	14,25	2520,28	5,69

Le differenze tra i parametri biodinamici più significativi delle due Composizioni (G) ed (H) sono leggermente a favore della Composizione (G), nonostante essi non siano marcatamente significanti dal punto di vista statistico.; pertanto le due composizioni analizzate debbono essere considerate come bioequivalenti

#### ESEMPIO 8

#### STUDIO DI BIOEQUIVALENZA RELATIVA DI DUE COMPOSIZIONI DI CALCITONINA (SALMONE) SPRAY NASALE





La Composizione (I) dell'invenzione, contenente calcitonina (salmone), é stata confrontata in uno studio pilota alla Composizione (K), una composizione già disponibile sul mercato e preparata secondo tecniche già note. In particolare sono stati determinati i parametri farmacocinetici dopo somministrazione nasale di uno stesso dosaggio (dose unica di 200 MRC in 90 microlitri di soluzione nasale/erogazione) di calcitonina (salmone), contenuta nelle due Composizioni (I) e (K), in 12 soggetti (sequenza di somministrazione definita a caso, 72 ore di intervallo fra i due dosaggi, determinazione delle concentrazioni plasmatiche di calcitonina (salmone) per mezzo di metodo radioimmunologico (RIA) e di reagenti già noti, elaborazione statistica dei parametri biodinamici determinati). La composizione di ciascuna formulazione viene riportata di seguito :

Composizione (I)


1,0 ml di soluzione nasale pronta per l'uso (I) contiene :

1i)	calcitonina (salmone)	2200	MRC
2i)	THAM	4,20	mg
3i)	acido citrico	6,00	mg
4i)	acqua distillata q. b. a	1,00	ml

Composizione (K)

1,0 ml di soluzione nasale pronta per l'uso (K) contiene :

1k)	calcitonina (salmone)	2200	MRC
2k)	cloruro di sodio	8,50	mg



3k)	cloruro di benزالconio	0,10	mg
4k)	acido cloridrico (1,0 N)	per regolare il pH	
5k)	azoto gas	per sostituire l'aria	
6k)	acqua purificata q. b. a	1,00	ml

Gli ingredienti della Composizione (I) sono stati utilizzati in scala proporzionale per ottenere un lotto pilota di 200 unità. La soluzione pronta per l'uso (I) é stata preparata seguendo i metodi già illustrati nell'Esempio 3, con l'eccezione che la soluzione (I) é stata usata per riempire in condizioni asettiche un contenitore dotato di un sistema erogatore speciale sterilizzante, prodotto allo scopo e disponibile sul mercato, che presenta un piccolo filtro aggiuntivo di forma cilindrica che sterilizza in modo idoneo l'aria atmosferica che entra nel contenitore dopo ogni erogazione per compensare la depressione interna. La Composizione (K) era già disponibile nel mercato.

I più importanti parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche nei 12 soggetti, a diversi intervalli dopo somministrazione nasale di una dose singola di 200 MCR di calcitonina (salmone) (separatamente della Composizione (I) e della Composizione (K), ciascuna applicata per mezzo di un contenitore multidose con una erogazione di 90 microlitri di volume) sono stati espressi statisticamente come Cmax (concentrazione più alta osservata), Tmax (tempo della concentrazione più alta osservata), AUCtot (area totale sotto la curva della concentrazione) e T1/2 (tempo di emivita).



Questi vengono riportati nelle seguenti Tabelle n.

Tabella n.° 7

Composizione (I) - Parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche, ottenute in uno studio pilota di biodisponibilità relativa in 12 volontari, dopo somministrazione nasale di una dose singola di 200 MCR di calcitonina (salmone) soluzione (I) (volume di 90 microlitri di soluzione nasale).

Soggetto n.	Cmax	Tmax	AUCtot	T 1/2
1C	81,34	16,00	3364,37	37,36
2C	84,58	25,00	4200,41	46,34
3C	77,57	15,00	3182,16	38,05
4C	76,16	15,00	2851,65	37,42
5C	76,48	16,00	2897,98	37,44
6C	83,75	20,00	4152,29	51,12
7C	81,13	24,00	3331,42	47,37
8C	77,51	19,00	3537,83	51,74
9C	69,12	25,00	3542,56	52,44
10C	83,70	20,00	3907,19	50,91
11C	85,29	19,00	4215,78	55,98
12C	82,05	21,00	3940,03	53,23
Minimo	69,12	15,00	2851,65	37,36
Massimo	85,26	25,00	4215,78	55,98
N	12	12	12	12
Medio	79,89	19,58	3593,64	46,62

HAC

Tabella n.° 8

Composizione (K) - Parametri farmacocinetici delle concentrazioni plasmatiche ottenute in uno studio pilota di biodisponibilità relativa in 12 volontari dopo somministrazione nasale di una dose singola di 200 MCR di calcitonina (salmone) soluzione (K) (volume di 90 microlitri di soluzione nasale).

Soggetto n.	Cmax	Tmax	AUCtot	T 1/2
1D	74,04	16,00	2621,47	43,05
2D	75,56	25,00	3653,31	51,69
3D	71,29	19,00	2847,96	43,55
4D	70,76	20,00	2781,60	53,81
5D	69,03	25,00	3121,25	45,92
6D	73,59	24,00	3407,59	48,37
7D	67,90	18,00	2372,33	39,71
8D	74,45	15,00	2921,84	39,78
9D	67,87	23,00	3147,82	42,40
10D	82,09	22,00	3991,74	50,38
11D	75,32	15,00	2974,38	40,39
12D	78,41	21,00	3779,15	54,92
Minimo	67,87	15,00	2372,33	39,71
Massimo	82,09	25,00	3991,74	54,92
N	12	12	12	12
Medio	73,36	20,25	3135,04	46,16

Le differenze tra i parametri biodinamici più significativi delle due Composizioni (I) e (K) sono leggermente a favore della Composizione (I), nonostante essi non siano marcatamente

significativi dal punto di vista statistico.; pertanto le due composizioni analizzate debbono essere considerate come bioequivalenti.


Sebbene siano stati qui descritti i vari aspetti della presente invenzione, é possibile che un esperto dell'arte possa modificare le combinazioni degli ingredienti di base ed opzionali e le condizioni di produzione ed ottenga risultati simili od equivalenti. Tali modifiche sono contemplate per essere nell'ambito della presente invenzione.

## **RIVENDICAZIONI**

1. Una composizione farmaceutica contenente :

(1) una quantità terapeuticamente efficace di un peptide nasale od un suo sale farmaceuticamente accettabile o suo frammento peptidico, come ingrediente terapeuticamente attivo ; e (2) il coadiuvante di assorbimento e stabilizzante THAM [tri(idrossimetil)] amminometano; in un diluente o veicolo liquido acquoso, essendo tale composizione in forma idonea per la somministrazione nasale.

2. Composizione farmaceutica, di cui alla rivendicazione 1, nella quale la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale farmaceuticamente accettabile o suo frammento peptidico viene selezionato fra il gruppo degli ormoni o derivati ormonali peptidici, delle linfochine o monochine fisiologicamente attive, degli enzimi peptidici, di

  
vaccini proteici, dei tossoidi peptidici, delle proteine personalizzate derivate dal genoma, che possono essere elaborate in forma idonea per la somministrazione nasale.

3. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene selezionato tra il gruppo degli ormoni o dei derivati ormonali peptidici, come buserelina, desmopressina, vasopressina, angiotensina, felipressina, octreotide, somatropina, tirotropina (TSH), somatostatina, goserelina, triptorelina ed insulina (bovina, porcina, sintetica o ricombinante).

4. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene ulteriormente selezionato tra il gruppo degli ormoni o dei derivati ormonali peptidici, come protirelina, adrenocorticotropina (ACTH), prolattina, ormone luteinizzante (LH), ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante (LH-RH), leuprorelina, calcitonina (umana, di pollo, di anguilla, porcina o ricombinante), carbocalcitonina e peptide calcitonina gene relazionato (CGRP).

5. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene ulteriormente selezionato tra il gruppo degli ormoni o dei derivati ormonali peptidici, come kallicreina, paratirina, glucagone, ossitocina,



gastrina, secretina, leptina, nafarelina, gonadotropina serica, fattore di rilascio della gonadotropina, ormone della crescita, eritropoietina, irudina, urogastrone, renina ed ormone paratiroideo umano (h-PTH).

6. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene ulteriormente selezionato tra il gruppo delle linfochine e monochine fisiologicamente attive, come interferone ed interleuchina, transferrina, istaglobulina, macrocortina, endorfine, encefalina e neurotensina.

7. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene ulteriormente selezionato tra il gruppo degli enzimi peptidici, come lisozima, urochinasi e superossido dismutasi.

8. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene ulteriormente selezionato tra il gruppo dei vaccini proteici acellulari e cellulari, come i vaccini della pertosse, difterico, tetanico ed influenzale.

9. Composizione farmaceutica, di cui alle rivendicazioni 1 e 2, nelle quali la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento viene anche selezionato tra il

gruppo dei tossoidi peptidici come difterico, tetanico e fra il gruppo delle proteine personalizzate derivate dal genoma.


**10.** Composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella quale (1) la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento si trova in concentrazioni da 0,001 microgrammi/ml a 50,0 mg/ml oppure da 10 Unità/ml a 20000 Unità/ml, in relazione alla dose unitaria terapeuticamente efficace da somministrare per via endonasale; e (2) THAM si trova in concentrazione da 0,5 mg/ml a 30,0 mg/ml.

**11.** Composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella quale (1) la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento si trova in concentrazioni da 0,01 microgrammi/ml a 50,0 mg/ml oppure da 20 Unità/ml a 12500 Unità/ml; e (2) THAM si trova in concentrazione da 2,0 mg/ml a 10,0 mg/ml.

**12.** Composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella quale (1) la quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o del suo sale o frammento si trova in concentrazioni da 0,05 microgrammi/ml a 10,0 mg/ml oppure da 100 Unità/ml a 6000 Unità/ml; e (2) THAM si trova in concentrazione da 2,5 mg/ml a 4,5 mg/ml.

**13.** Composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella quale detta composizione farmaceutica é sotto forma di soluzione pronta per l'uso o di






soluzione da ricostituire idonea per la somministrazione nasale sotto forma di gocce o di spray nasale.

**14.** Composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, somministrabile in forma adeguata in dose unitaria di volume controllato oppure in dosi multiple, detta erogazione comprendente una dose unitaria di volume controllato compresa tra 50 e 200 microlitri.

**15.** Metodo per produrre la composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella quale il diluente o veicolo liquido acquoso comprende eventuali altri additivi ausiliari, idonei all'uso farmaceutico, come (a) acido cloridrico o citrico; (b) uno oppure una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e/o propile; e (c) cisteina.

**16.** Metodo per produrre la composizione farmaceutica, di cui alla rivendicazione 15, nella quale il diluente o veicolo liquido acquoso comprende inoltre eventuali altri additivi ausiliari, idonei all'uso farmaceutico, come (a) acido cloridrico 0,1 N in concentrazione tra 0,3 mg/ml e 50,0 mg/ml oppure acido citrico in concentrazione tra 0,6 mg/ml e 60,0 mg/ml, più vantaggiosamente tra 2,8 mg/ml e 6,2 mg/ml; (b) uno oppure una miscela di p.-idrossibenzoato di metile e/o propile in concentrazione non eccedente 0,3 mg/ml con un rapporto compreso tra 2:1 e 20:1; e (c) cisteina in concentrazioni tra 0,5 mg/ml e 10,0 mg/ml,



**17.** Metodo per produrre la composizione farmaceutica per somministrazione nasale, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella forma di soluzione pronta per l'uso, detto metodo comprendente i seguenti passaggi di : aggiungere una adeguata quantità di acqua distillata a THAM ed eventualmente a p.-idrossibenzoato di metile e/o di propile, acido cloridrico oppure citrico e cisteina fino a completa dissoluzione, sciogliendo quindi alla fine nella suddetta miscela solubilizzata una idonea quantità di peptide nasale o di un suo sale farmaceuticamente accettabile o di un suo frammento peptidico.

**18.** Metodo per produrre la composizione farmaceutica, di cui alla rivendicazione 17, che include inoltre il passaggio di : filtrare per rendere la soluzione idonea alla somministrazione nasale e riempire con il filtrato uno strumento di erogazione, monodose a perdere oppure multidose, di preferenza dotato di sistema di numerazione della dose progressiva.

**19.** Un metodo per produrre la composizione farmaceutica per somministrazione nasale, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nella forma di soluzione da ricostituire, detto metodo comprendente i passaggi di : preparare con metodi convenzionali il contenitore n.° 1, contenente il peptide nasale in polvere, e a parte il contenitore n.° 2, contenente la miscela solvente per la ricostituzione, risultante aggiungendo una idonea quantità di acqua distillata a THAM, ed eventualmente a



*[Handwritten signature]*

p.-idrossibenzoato di metile e/o propile, acido cloridrico oppure citrico, e cisteina fino a completa dissoluzione, filtrare per rendere la soluzione idonea per la somministrazione nasale e riempire con il filtrato il contenitore n.° 2.

**20.** Metodo per produrre la composizione farmaceutica, di cui alla rivendicazione 19, che include inoltre il passaggio di : preparare la soluzione ricostituita al momento di iniziarne l'uso, versando la miscela solvente del contenitore n.° 2 nel contenitore n.° 1; mescolare accuratamente ruotando fino a completa dissoluzione; avvitare lo strumento di erogazione multidoso sull'imboccatura del contenitore n.° 1, contenente la soluzione ricostituita.

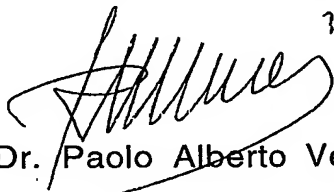
**21.** Composizione farmaceutica per somministrazione nasale, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, che da origine a formulazioni stabili, sia a lunga scadenza che durante l'uso, di una quantità terapeuticamente efficace di peptide nasale o di un suo sale idoneo per uso farmaceutico o di un suo frammento peptidico.

**22.** Metodo per trattare con una composizione farmaceutica, di cui a qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, di un paziente, che comprende la somministrazione endonasale in forma di gocce o di spray nasale a tale soggetto malato di un volume dosato di detta composizione, che include una quantità terapeuticamente attiva di peptide nasale o di un suo sale idoneo per uso farmaceutico o di un suo frammento peptidico

associato in forma idonea con THAM in un diluente o veicolo liquido acquoso, idoneo per l'uso farmaceutico, allo scopo di evocare l'effetto farmacologico desiderato.

**23.** Metodo, di cui alla rivendicazione 22, nel quale la dose volumetrica della composizione farmaceutica somministrabile sotto forma di sistema monodose a perdere o multidose, é compresa tra 50 microlitri e 200 microlitri per ciascuna erogazione.

Milano, 29 luglio 2002

  
Dr. Paolo Alberto Veronesi  
(Amministratore Unico)



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**